

Daya Antibakteri dan Waktu Kontak Infusa Teh Hijau (*Camellia sinensis*) Terhadap *Salmonella typhi* Secara *In Vitro*

Dione Margareth Setiawan, Sadeli Masria, Chrysanti
Bagian Mikrobiologi
Fakultas Kedokteran Universitas Padjadjaran, Bandung

Abstrak

The hijau (*Camellia sinensis*) memiliki beragam efek farmakologik, di antaranya sebagai antibakteri. *Salmonella typhi* penyebab demam tifoid, masih merupakan masalah kesehatan masyarakat di negara tropis terdapat 20 juta kasus dan 600.000 kematian per tahun di seluruh dunia. Penelitian ini ingin mengetahui daya antibakteri dan lamanya waktu kontak infusa teh hijau dari berbagai merek kemasan terhadap *Salmonella typhi* secara *in vitro* dengan menggunakan teknik difusi sumur, selanjutnya data dianalisis dengan ANAVA dan uji t-independen. Penelitian dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Padjadjaran, Bandung pada bulan Maret-April 2009. Hasil menunjukkan infusa dengan konsentrasi 40% (b/v) kemasan komersial Indonesia memberikan rata-rata diameter daerah hambat $3,376 \pm 0,334$ mm dan $3,571 \pm 0,217$ mm pada kemasan Jepang ($p < 0,05$); $0,707 \pm 0,000$ mm pada konsentrasi di bawah 40% rata-rata daerah hambat. Tidak terdapat perbedaan antara kemasan Indonesia dan Jepang ($p > 0,551$). Terdapat kekeruhan pada media cair Muller-Hinton dibandingkan dengan media kontrol pada konsentrasi di bawah 40%. Teramatinya pertumbuhan koloni *S. typhi* pada agar Muller-Hinton konsentrasi 5% dan 10%. Tidak teramati penurunan jumlah koloni *S. typhi* konsentrasi kurang atau sama dengan 40% pada pengamatan waktu kontak 0 sampai 60 menit ($p > 0,05$; $\alpha = 0,05$). Kesimpulan menunjukkan teramatinya daya antibakteri infusa teh hijau pada kemasan dengan konsentrasi 40%. Belum teramatinya daya antibakteri infusa dan pengaruh waktu kontak positif pada reduksi pertumbuhan koloni *S. typhi* pada kemasan dengan konsentrasi di bawah 40%. [MKB. 2010;42(2):51-5].

Kata kunci: Teh hijau, infusa, daya antibakteri, waktu kontak, *Salmonella typhi*

Antibacterial Activities and Time Contact Green Tea Infusion (*Camellia Sinensis*) Againsts *Salmonella Typhi* by In Vitro

Abstract

Green tea (*Camellia sinensis*) contains catechin which has been reported to have various pharmacologic properties, such as an antibacterial agent. *Salmonella typhi*, as agent of typhoid fever, remains a public health problem in tropical countries; about 20 million cases and 600.000 deaths annually all over the world. Objectives of this research were to observe the antibacterial activities and contact time of green tea infusion againsts *Salmonella typhi* by in vitro experiment. The experiment took place in Microbiology Laboratory, School of Medicine, Padjadjaran University, Bandung, March-April 2009. Methods: In vitro laboratory analytic study has been conducted on green tea infusion of Indonesian and Japanese commercial package againsts *Salmonella typhi*. The study used agar well diffusion method and analyzed by ANAVA and t-independent test. Results: Only at concentration of 40% (w/v), Indonesian green tea infusion gave an average inhibition area of 3.376 ± 0.334 mm diameter, and 3.571 ± 0.217 mm on Japanese package, while below 40% were 0.707 ± 0.000 mm with no differences between both packages ($p > 0.551$). There has been observed any turbidity in all Muller Hinton liquid media on both packages compared with control medium, also any growth of *Salmonella typhi* collony in all Muller Hinton agar at concentrations below 40%. Green tea infusion on both packages has been observed to have antibacterial activities at 40% but neither been observed at concentration below 40%. [MKB. 2010;42(2):51-5].

Key words: Green tea, infusion, antibacterial activities, time contact, *Salmonella typhi*

Korespondensi: dr. Dione Margareth, Bagian Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Padjadjaran, Jln. Raya Bandung Sumedang, Jatinangor

Pendahuluan

Indonesia, negara penghasil teh terbesar kelima setelah India, China, Srilanka dan Kenya, tetapi konsumsi teh di Indonesia masih tergolong rendah (0,2 kg/kapita/tahun).¹ Daun teh hijau yang diolah tanpa melalui proses fermentasi mengandung senyawa polifenol sebesar 20-35% dengan 60-80% yang berupa katekin. Katekin utama yang ditemukan pada daun teh hijau di antaranya: (-)-epigallocatekin (EGC), (-)-epikatekin galat (ECG), (-)-epikatekin (EC), (-)-epigallocatekin-3-galat (EGCG), (+)-katekin (C), (-)-galloekatekin galat (GCG).² Berbagai penelitian melaporkan bahwa katekin dari daun teh hijau memiliki bermacam-macam efek farmakologik, antara lain: antidiabetik, hipokolesterolemia, antiangiogenik, menginduksi apoptosis, antiobesitas, antioksidan, antiinflamasi, antikarsinogenik, antimutagenik, serta mempunyai daya hambat terhadap berbagai mikroorganisme.³⁻¹¹

Salmonella typhi sebagai penyebab demam tifoid, yang masih merupakan masalah kesehatan masyarakat dan penyebab utama morbiditas di negara tropis, tercatat terdapat 20 juta kasus dan 600.000 kematian per tahunnya akibat penyakit tersebut di seluruh dunia.¹² Pada laporan penelitian Ciraj dkk.¹³ ditemukan adanya aktivitas antibakteri ekstrak alkohol teh hitam terhadap *Salmonella typhi* pada konsentrasi 2% (V/V).

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Padjadjaran, Bandung pada bulan Maret-April 2009. Pada penelitian ini menggunakan metode infusa sebagai metode ekstraksi dengan pelarut air karena pengerjaannya mudah dan murah dibandingkan dengan metode ekstraksi lainnya.

Metode

Bakteri uji yang diperlukan untuk penelitian ini adalah tujuh isolat *S. typhi* yang berasal dari Laboratorium Sandia, Bandung, serta *S. typhi* NCTC 786 BFC 712 sebagai bakteri kontrol yang disuspensikan dengan larutan NaCl 0,9% sampai kekeruhannya sesuai dengan standar uji McFarland 0,5. Isolat *S. typhi* diisolasi dari darah dengan menggunakan sistem kultur-darah otomatis komersial BD BACTECTM Plus Aerobic/F* (Becton Dickinson, Temse, Belgium) dan dikultur pada media agar McConkey, lalu

diidentifikasi dengan API® 20E (bioMerieux, Inc, France).

Bahan uji yang dipakai adalah dua kemasan teh hijau komersial, yang terdiri dari satu kemasan komersial Indonesia Teh Hijau Tong Tji yang diproduksi oleh Perusahaan Teh Dua Burung Tegal-Indonesia, No. Reg 415046 BPOM RI MD 341211010017, dan satu kemasan komersial *Japanese Green Tea* yang diproduksi oleh Teh Enam Tiga, Teh dan Kesehatan, DEPKES RI MD 341210001317, yang dibuat dalam bentuk infusa pada konsentrasi uji dari konsentrasi 2,5%, 5%, 10%, 20%, dan 40% (w/v).

Pada penelitian ini digunakan metode analitik laboratoris untuk menguji daya antibakteri dengan menggunakan teknik difusi sumur (modifikasi Kirby Bauer). Penentuan konsentrasi hambat minimal (KHM) dan konsentrasi bakterisidal minimal (KBM) yang dilakukan dengan teknik pengenceran infusa konsentrasi uji sebanyak 2 kali, serta penentuan waktu kontak teh hijau terhadap *S. typhi* pada 0, 15, 30, 45, dan 60 menit. Data penelitian tersebut dianalisis dengan analisis varians (ANOVA), dan selanjutnya dilakukan uji jarak berganda Duncan. Apabila hasil penelitian menunjukkan tidak ada interaksi maka data hanya membedakan dua perlakuan.

Hasil

Pada Tabel 1 bahwa hasil penelitian dengan teknik difusi sumur memperlihatkan infusa teh hijau kemasan komersial Indonesia pada konsentrasi 40% memberikan rata-rata diameter daerah hambat 3,376 mm dengan standar deviasi 0,334. Kemasan komersial Jepang dengan konsentrasi 40% didapat rata-rata diameter daerah hambat 3,571 mm dengan standar deviasi 0,217. Pada konsentrasi 2,5%, 5%, 10%, dan 20% rata-rata diameter daerah hambat di sekeliling sumur infusa teh hijau adalah 0,707 mm dengan standar deviasi 0,000.

Hasil uji analisis varians untuk konsentrasi menunjukkan bahwa nilai $p = 0,000$ lebih kecil dari 0,05 sehingga dapat disimpulkan bahwa kelima konsentrasi yaitu 2,50%, 5%, 10%, 20%, dan 40% menunjukkan perbedaan yang sangat bermakna.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa rata-rata diameter daerah hambat infusa teh hijau pada konsentrasi 40% sebesar 1,924 mm lebih tinggi

Tabel 1 Diameter Daerah Hambat Infusa Teh Hijau Kemasan Komersial Indonesia dan Jepang dalam Berbagai Konsentrasi terhadap *Salmonella typhi* Secara *In Vitro* dengan Teknik Difusi Sumur

Isolat	Diameter Daerah Hambat Teh Hijau Komersial Kemasan Indonesia (mm)					Diameter Daerah Hambat Teh Hijau Komersial Kemasan Jepang (mm)				
	2,50%	5%	10%	20%	40%	2,50%	5%	10%	20%	40%
<i>S. typhi</i> 1	0,707	0,707	0,707	0,707	3,035	0,707	0,707	0,707	0,707	3,536
<i>S. typhi</i> 2	0,707	0,707	0,707	0,707	3,391	0,707	0,707	0,707	0,707	3,279
<i>S. typhi</i> 3	0,707	0,707	0,707	0,707	0,707	0,707	0,707	0,707	0,707	0,707
<i>S. typhi</i> 4	0,707	0,707	0,707	0,707	0,707	0,707	0,707	0,707	0,707	0,707
<i>S. typhi</i> 5	0,707	0,707	0,707	0,707	0,707	0,707	0,707	0,707	0,707	0,707
<i>S. typhi</i> 6	0,707	0,707	0,707	0,707	0,707	0,707	0,707	0,707	0,707	0,707
<i>S. typhi</i> 7	0,707	0,707	0,707	0,707	0,707	0,707	0,707	0,707	0,707	3,744
<i>S. typhi</i> NCTC 786 BFC 712	0,707	0,707	0,707	0,707	3,703	0,707	0,707	0,707	0,707	3,727
Rata-rata	0,707	0,707	0,707	0,707	3,376	0,707	0,707	0,707	0,707	3,571
sd	0,000	0,000	0,000	0,000	0,334	0,000	0,000	0,000	0,000	0,217

Tabel 2 KHM Infusa Teh Hijau Kemasan Komersial Indonesia dan Jepang dalam Berbagai Konsentrasi Terhadap *Salmonella typhi* pada Media Cair Muller Hinton Dibandingkan dengan Kekeruhan Media Kontrol Sesuai Standar Mc Farland 0.5

Isolat	Teh Hijau Kemasan Indonesia						Teh Hijau Kemasan Jepang					
	0,31 %	0,62 %	1,25 %	2,5 %	5 %	10 %	0,31 %	0,62 %	1,25 %	2,5 %	5 %	10 %
<i>S. typhi</i> 1	keruh	keruh	keruh	keruh	keruh	keruh	keruh	keruh	keruh	keruh	keruh	keruh
<i>S. typhi</i> 2	keruh	keruh	keruh	keruh	keruh	keruh	keruh	keruh	keruh	keruh	keruh	keruh
<i>S. typhi</i> 3	keruh	keruh	keruh	keruh	keruh	keruh	keruh	keruh	keruh	keruh	keruh	keruh
<i>S. typhi</i> 4	keruh	keruh	keruh	keruh	keruh	keruh	keruh	keruh	keruh	keruh	keruh	keruh
<i>S. typhi</i> 5	keruh	keruh	keruh	keruh	keruh	keruh	keruh	keruh	keruh	keruh	keruh	keruh
<i>S. typhi</i> 6	keruh	keruh	keruh	keruh	keruh	keruh	keruh	keruh	keruh	keruh	keruh	keruh
<i>S. typhi</i> 7	keruh	keruh	keruh	keruh	keruh	keruh	keruh	keruh	keruh	keruh	keruh	keruh
<i>S. typhi</i> NCTC 786 BFC 712	keruh	keruh	keruh	keruh	keruh	keruh	keruh	keruh	keruh	keruh	keruh	keruh

dibandingkan dengan diameter daerah hambat infusa teh hijau pada konsentrasi 2,50%, 5%, 10%, dan 20%. Diameter daerah hambat infusa teh hijau antara kemasan komersial Indonesia dan Jepang terhadap *S. typhi* secara *in vitro* dengan teknik difusi sumur dengan nilai p sebesar 0,551 sehingga dapat disimpulkan bahwa antara kemasan komersial Indonesia dan Jepang tidak menunjukkan perbedaan yang bermakna.

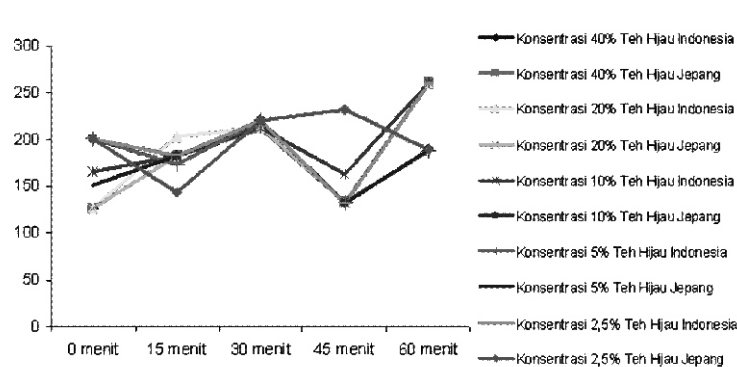
Nilai statistik uji t-independen sebesar 0,588 dengan p 0,566 lebih besar dari $\alpha = 0,05$, yaitu tidak terdapat daya antibakteri infusa teh hijau terhadap *S. typhi* secara *in vitro*, baik pada teh hijau kemasan komersial Indonesia maupun

Jepang. Pemberian konsentrasi 2,5%, 5%, 10%, 20%, dan 40% tidak memberikan efek terhadap pertumbuhan *S. typhi* secara *in vitro* dengan teknik difusi sumur.

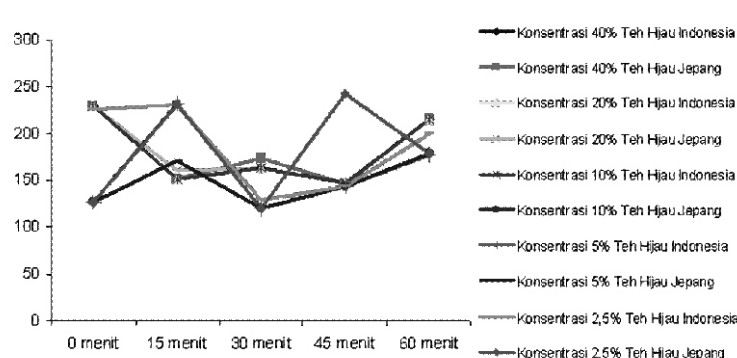
Hasil pengamatan pada media agar dan cair Muller Hinton, dapat disimpulkan bahwa infusa teh hijau tidak memiliki KHM dan KBM terhadap *S. typhi*, yang dapat dilihat masih terdapat kekeruhan pada media cair Muller-Hinton dibanding media kontrol pada konsentrasi 10%, 5%, 2,5%, 1,25%, 0,62% dan 0,31% baik pada teh hijau kemasan komersial Indonesia dan Jepang, serta tetap teramatinya pertumbuhan koloni *S. typhi* pada agar Muller Hinton pada konsentrasi

Tabel 3 KBM Infusa Teh Hijau Kemasan Komersial Indonesia dan Jepang pada Konsentrasi 10% dan 5% Terhadap *Salmonella typhi* Secara *In Vitro* pada Media Agar Muller Hinton

Isolat	Pertumbuhan Koloni Bakteri dengan Teh Hijau Kemasan Indonesia		Pertumbuhan Koloni Bakteri dengan Teh Hijau Kemasan Jepang	
	5%	10%	5%	10%
<i>S. typhi</i> 1	koloni +	koloni +	koloni +	koloni +
<i>S. typhi</i> 2	koloni +	koloni +	koloni +	koloni +
<i>S. typhi</i> 3	koloni +	koloni +	koloni +	koloni +
<i>S. typhi</i> 4	koloni +	koloni +	koloni +	koloni +
<i>S. typhi</i> 5	koloni +	koloni +	koloni +	koloni +
<i>S. typhi</i> 6	koloni +	koloni +	koloni +	koloni +
<i>S. typhi</i> 7	koloni +	koloni +	koloni +	koloni +
<i>S typhi</i> NCTC 786 BFC 712	koloni +	koloni +	koloni +	koloni +



Gambar 1 Pengaruh Waktu Kontak Infusa Teh Hijau Terhadap Pertumbuhan Koloni Isolat *Salmonella typhi* (dalam 105 CFU) Saat 0, 15, 30, 45, dan 60 Menit Secara *In Vitro*



Gambar 2 Pengaruh Waktu Kontak Infusa Teh Hijau Terhadap Pertumbuhan Koloni *Salmonella typhi* NCTC 786 BFC 712 (dalam 105CFU) Saat 0, 15, 30, 45, dan 60 Menit secara *In Vitro*

5% dan 10% infusa teh hijau kedua kemasan (Tabel 2 dan 3).

Hasil pengamatan pengaruh waktu kontak 0, 15, 30, 45, dan 60 menit infusa teh hijau dengan konsentrasi 2,5%, 5%, 10%, 20% dan 40% pada kemasan komersial Indonesia dan Jepang terhadap *S. typhi* secara deskriptif tidak terdapat penurunan pertumbuhan koloni bakteri (Gambar 1 dan 2).

Pembahasan

Pada daun teh (*Camellia sinensis*) mengandung senyawa katekin, di antaranya (-)-epigallocatekin (EGC), (+)-katekin (C), (-)-galoka-tekin galat (GCG), (-)-epikatekin galat (ECG), (-)-epikatekin (EC), serta (-)-epigallocatekin-3-galat (EGCG).² Peneliti terdahulu telah banyak melaporkan

bahwa katekin sebagai zat aktif yang terkandung di dalam teh hijau yang mempunyai aktivitas penghambatan berbagai mikroorganisme.³⁻¹³

Pada penelitian ini hanya pada konsentrasi 40% infusa teh hijau terdapat daerah hambat, sedangkan pada konsentrasi uji lainnya, infusa teh hijau tidak memberikan daerah hambat pada dua kemasan komersial, juga tidak didapatkan KHM dan KBM serta tidak terjadi penurunan jumlah koloni *S. typhi* pada percobaan waktu kontak 0, 15, 30, 45, dan 60 menit.

Ketidaksesuaian hasil penelitian penulis dengan para peneliti terdahulu diduga karena adanya perbedaan cara penarikan zat aktif, berupa katekin, yang terkandung di dalam daun teh. Seperti diketahui bahwa para peneliti terdahulu menggunakan teknik ekstraksi teh hijau dan produk katekin itu sendiri sebagai bahan uji, yang memiliki kandungan zat aktif lebih tinggi dibandingkan dengan penelitian saat ini yang menggunakan teknik infusa. Kadar zat aktif teh hijau lebih rendah atau tidak ada sama sekali. Perbedaan hasil penelitian tersebut terlihat pada pelaporan Ciraj dkk.,¹³ bahwa penggunaan ekstrak alkohol teh hitam mempunyai aktivitas antibakteri terhadap *S. typhi* dan *S. paratyphi*.³⁻¹³

Walaupun pada konsentrasi 40%, infusa teh hijau memberikan daerah hambat di sekeliling sumur, namun secara statistik dinyatakan tidak bermakna ($p=0,556$ dengan $\alpha=0,05$) memberikan daya antibakteri terhadap *S. typhi*. Hal tersebut dapat disebabkan adanya proses osmosis pada konsentrasi 40% yang mengakibatkan lisisnya dinding bakteri.

Daftar Pustaka

1. Fulder S. Khasiat teh hijau. Jakarta: Prestasi Pustaka Karya; 2004.
2. Ebadi M. Pharmacodynamic basis of herbal medicine. Edisi ke-2. New York: Taylor and Francis Group; 2007.
3. Sakanaka S, Kim M, Tanicuchi M, Yamamoto T. Antibacterial substances in Japanese green tea extract against *Streptococcus mutans*, a cariogenic bacterium. *Agric Biol Chem*. 1989;53(9):2307-11.
4. Atira. Uji daya antibakteri produk teh (*Camellia sinensis* L) terhadap *Vibrio cholerae* dan *Shigella dysenteriae* secara *in vitro* [tesis]. Bandung: Universitas Padjadjaran, Bandung; 2002.
5. Yamazaki T, Inoue M, Sasaki N, Hagiwara T, Kishimoto T, Shiga S, dkk. *In vitro* inhibitory effects of tea polyphenols on the proliferation of *Chlamydia trachomatis* and *Chlamydia pneumoniae*. *Jpn J Infect Dis*. 2003 June;56:143-5.
6. Hirasawa M, Takada K. Multiple effects of green tea catechin on the antifungal activity of antimycotics against *Candida albicans*. *JAC*. 2004;53(2):225-9.
7. Minoru H, Kazuo K, Yoshiko S. Antibacterial action on pathogenic bacterial spore by green tea catechins. *J Science of Food Agriculture*. 2005 November; 85(14):2354-61.
8. Mbata TI, Debiao LU, Saikia. Antibacterial activity of the crude extract of Chinese green tea (*Camellia sinensis*) on *Listeria monocytogenes*. *African Biotechnol*. 2008 May;7(10):11571-3.
9. Jazani NH, Shahai S, Ali AA, Zartoshti M. Antibacterial effects of water soluble green tea extracts on multi-antibiotic resistant isolates of *Acinobacter* sp. *Pakistan J Biological Sciences*. 2007;10(9):1028-80.
10. Jazani NH, Shahabi Sh, Ali AA. Antibacterial effects of water soluble green tea extracts on multi-antibiotic resistant isolates of *Pseudomonas aeruginosa*. *Pakistan J Biological Sciences*. 2007; 10(9):1544-6.
11. Taguri T, Tanaka T, Kouno I. Antimicrobial activity of 10 different plant polyphenols against bacteria causing food-borne disease. *Bio Pharm Bull*. 2004 May;27(12):1965-9.
12. Baliga S. Drug resistance in *Salmonella typhi*: tip of the iceberg. *OJHAS*. 2004 October-December;3(4):1.
13. Ciraj AM, Sulaim J, Marnatha B, Gopalkrishna BK, Shivananda PG. Antibacterial activity of black tea (*Camellia sinensis*) extract against *Salmonella* serotypes causing enteric fever. *Indian J Med Sciences*. 2001;55(7):376-81.